

Original Article

Loop와 HPLC Purification 방법보다 더 높은 비방사능을 보여주는 카트리지 Methylation과 Purification을 이용한 손쉬운 [¹¹C]PIB 합성

서울대학교병원 핵의학과

이용석 · 조용현 · 이홍재 · 이윤상 · 정재민

Facile [¹¹C]PIB Synthesis Using an On-cartridge Methylation and Purification Showed Higher Specific Activity than Conventional Method Using Loop and High Performance Liquid Chromatography Purification

Yong-Seok Lee¹, Yong-Hyun Cho¹, Hong-Jae Lee¹, Yun-Sang Lee^{2,3,4} and Jae Min Jeong^{1,2,3}

¹Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

²Institute of Radiation Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

³Institute of Cancer Research, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

⁴Department of Molecular Medicine and Biopharmaceutical Sciences Graduate School of Convergence Science and Technology, and College of medicine or College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea

Abstract

[¹¹C]PIB synthesis has been performed by a loop-methylation and HPLC purification in our lab. However, this method is time-consuming and requires complicated systems. Thus, we developed an on-cartridge method which simplified the synthetic procedure and reduced time greatly by removing HPLC purification step. We compared 6 different cartridges and evaluated the [¹¹C]PIB production yields and specific activities. [¹¹C]MeOTf was synthesized by using TRACERlab FXC Pro and was transferred into the cartridge by blowing with helium gas for 3 min. To remove byproducts and impurities, cartridges were washed out by 20 mL of 30% EtOH in 0.5 M NaH₂PO₄ solution (pH 5.1) and 10 mL of distilled water. And then, [¹¹C]PIB was eluted by 5 mL of 30% EtOH in 0.5 M NaH₂PO₄ into the collecting vial containing 10 mL saline. Among the 6 cartridges, only tC18 environmental cartridge could remove impurities and byproducts from [¹¹C]PIB completely and showed higher specific activity than traditional HPLC purification method. This method took only 8 ~ 9 min from methylation to formulation. For the tC18 environmental cartridge and conventional HPLC loop methods, the radiochemical yields were 12.3±2.2% and 13.9±4.4%, respectively, and the molar activities were 420.6±20.4 GBq/μmol (n=3) and 78.7±39.7 GBq/μmol (n=41), respectively. We successfully developed a facile on-cartridge methylation method for [¹¹C]PIB synthesis which enabled the procedure more simple and rapid, and showed higher molar radio-activity than HPLC purification method.

Key Words

[¹¹C]PIB, tC18 Cartridge, Cartridge purification

• Received: October 01, 2018 Accepted: October 11, 2018

• Corresponding author: **Jae Min Jeong**

• Department of Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Institute of Cancer Research, Seoul National University College of Medicine 101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 110-744, Korea

Tel: +82-2-2072-3805, Fax: +82-2-745-7690

E-mail: jmjng@snu.ac.kr

Introduction

치매는 뇌의 기능과 기억력을 서서히 감퇴시키는 비가역적인 진행성 질환으로서 현재까지 발병원인이 명확히 밝혀진 바는 없으나 뇌에 beta amyloid (Aβ) plaque 라는 변성 단백질이 계속 축적되어 발병하는 것으로, 병의 정도가 진행됨에 따라 Aβ plaque의 양이 점점 많아지는 것으로 보고되고 있다.¹⁾ 치매와 같은 노인성 질환은 평균수명이 증가함에 따라 점점 그 발생 빈도가 증가되고 있으며,²⁾ 이로 인해 이러한 질병을 조기에 진단할 수 있는 방사성의약품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.³⁾

[¹¹C]PIB(N-Methyl-[¹¹C]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole)는 양전자단층촬영(Positron Emission Tomography)을 하기에 충분한 양이 뇌-혈류장벽(Blood-Brain-Barrier)을 통과하여 Aβ plaque에 binding 할 수 있는 대표적인 방사성의약품으로 현재까지 치매를 조기에 진단 및 병의 진행단계를 파악하는데 가장 널리 사용되고 있는 amyloid-imaging agent이다.⁴⁾ 지난 3년 동안 (2015 ~ 2017) Seoul National University Hospital Radiopharmaceutical Production Research and Development(SNUH RPRD)에서는 다양한 종류의 C-11 방사성의약품을 제조하였으며, 그 중에서 [¹¹C]PIB의 합성 횟수는 487건 (162건/년)으로 다른 compound에 비하여 합성 빈도가 많았다(Fig. 1). 이러한 이유로 더욱더 효과적으로 [¹¹C]PIB를 합성하는 방법을 강구하게 되었다.

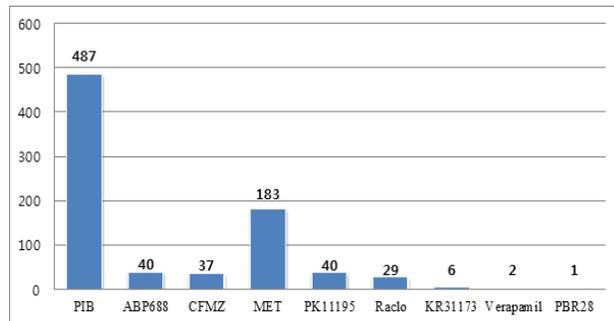


Fig. 1. [¹¹C] Radiopharmaceutical production frequency in SNUH RPRD from 2015 to 2017.

지금까지 많은 실험실에서 [¹¹C]PIB를 합성하는 방법은 vial 이나 loop method를 이용하여 자동화 합성장치로 합성을 하는 것이었다. Vial method는 자동합성장치를 이용하여 [¹¹C]MeOTf를 만들어 실온에서 methylation을 한 다음 reaction mixture를 끓이거나 또는 끓이지 않고 loop로 injection하여 High Performance Liquid Chromatography

(HPLC) System으로 purification을 하는 것이다. 이 방법은 생산수율(%)이 다른 방법 (loop method)에 비하여 높다는 장점이 있으나, 용매(200 uL 이상)의 양이 많이 필요하고, vial에서 loop로 injection 될 때 mixture의 손실이 많다는 단점이 있다. 반면에 loop method는 loop에서 methylation을 한 다음 HPLC로 정제하는 것으로서, 용매(100 uL 이내)의 양이 적게 필요하며, 최종 loop로 injection되는 mixture의 손실이 거의 없다는 장점이 있으나, loop에서 reaction mixture의 산화로 인하여 최종 생산수율(%)이 vial method에 비하여 낮다는 단점이 있다. 이처럼 vial과 loop method의 장점과 단점이 있기는 하지만 공통적인 단점은 methylation에서 정제까지 시간이 많이 소요되고 (15 ~ 20 min), 고가의 장비인 HPLC를 유지하고 운영하는데 많은 경제적 비용이 필요하고, 최종 product에서 에탄올 함량이(≥65%) 높다는 것이다.

이러한 단점을 개선하고 지금까지 보고된 방법이 아닌 새로운 방법인 카트리지 방법을 이용하여 카트리지에서 methylation과 purification을 동시에 실시하여 합성시간을 단축하고, 낮은 농도의 에탄올 함량을 지닌 [¹¹C]PIB를 간편하게 합성하고자 하였다(Fig. 2). 카트리지 정제의 일반적인 원리는 화합물특성에 부합하는 카트리지를 선택한 후 에탄올과 D.W로 전처리를 한 다음 compound mixture를 카트리지에 loading한 후에 적당한 완충액으로 불순물을 제거한 다음 elution buffer로 최종 target compound를 용출하는 것이다 (Fig. 3). 이처럼 카트리지 방법은 HPLC purification 과정을 생략하고 카트리지에서 정제과정을 실시함으로써 경제적으로 이득일 뿐만 아니라, 시간도 절약할 수 있는 좋은 방법이라고 생각된다.

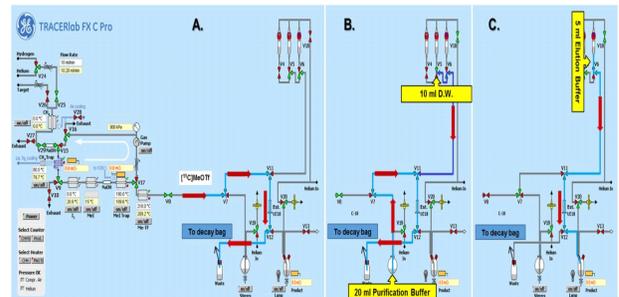


Fig. 2. Diagram of [¹¹C]PIB synthesis on SPE tC18 environmental cartridge: A, [¹¹C]methyltriflate passed into the cartridge to react with precursor mixture; B, purification buffer(20 mL of 30% EtOH in 0.5 M monosodium phosphate, MSP, pH 5.1) and followed by 10 mL D.W. was used to washout impurities into the waste bottle ; C, the target tracer([¹¹C]PIB) was eluted with 5mL of elution buffer(30% EtOH in 0.5 M MSP).

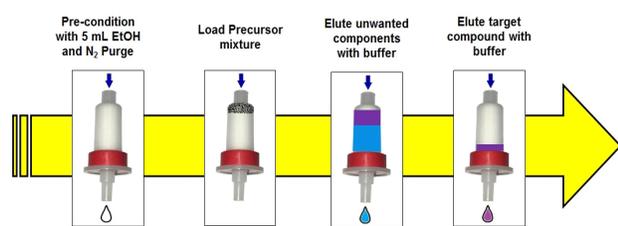


Fig. 3. Principle of purifying the mixture in the cartridge.

또한, HPLC를 이용하여 PIB reaction mixture를 reverse phase (RP) C18 column으로 분리했을 때 $[^{11}\text{C}]$ Methyl iodide or $[^{11}\text{C}]$ Methyl triflate \rightarrow solvent \rightarrow 6-OH-BTA-0 \rightarrow $[^{11}\text{C}]$ PIB의 순서로 용출되는데(Fig. 4), 6-OH-BTA-0의 amine group에 수소대신 $[^{11}\text{C}]$ methyl group가 결합함으로써 $[^{11}\text{C}]$ PIB가 전구체보다 더 낮은 극성도를 띄기 때문에 충전물과의 친화력이 증가하여 가장 나중에 용출된다는 것을 알 수 있다. 이러한 사실로 미루어 볼 때 카트리지 방법에서도 target compound의 비 극성도가 가장 높다는 사실을 이용하여 정제 과정에서 불순물만 용출시키고, 고순도의 $[^{11}\text{C}]$ PIB만 용출하는 것이 가능한지 확인하고자 하였다.

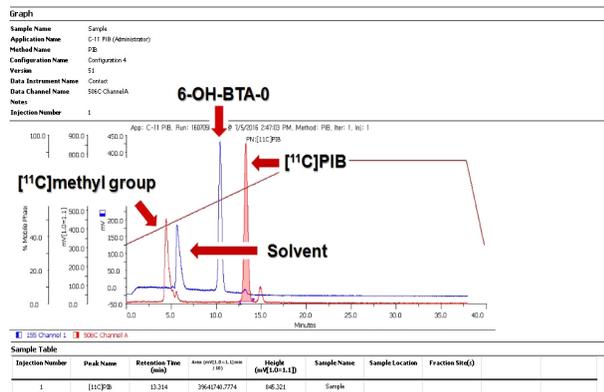


Fig. 4. Diagram of separated $[^{11}\text{C}]$ PIB reaction mixture using preparative HPLC.

Materials and Methods

1. 장비 및 시약

precursor (1 mg, 4 μmol , (6-Benzothiazolol, 2-(4-aminophenyl)-), 6-OH-BTA-0) 및 표준품 ((6-Benzothiazolol, 2-[4-(methylamino)phenyl] hydrochloride), 6-OH-BTA-1)은 ABX (Radeberg, Germany)에서 구입하였다. 그 이외 모든 시약과 유기용매는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, U.S.A.) 와 DukSan (Korea) 제품을 사용하였다. 총 6 종류의 solid-phase extraction (SPE)

cartridge (Carboxymethyl (CM), Hydrophilic-lipophilic balance (HLB), Alumina, C18, tC18, tC18 environmental)는 Waters (Massachusetts, U.S.A.)에서 구입하였고, 0.2 μm Hydrophobic Polytetrafluoroethylene (PTFE) membrane FG filter unit와 0.22 μm Hydrophilic Polyvinylidene Fluoride (PVDF) membrane GV filter unit는 Merck Millipore (Darmstadt, Germany)제품을 사용하였다. $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ 와 $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$ 는 PETtrace 10 (GEMS, Uppsala, Sweden)과 Tracerlab FX C pro (GEMS, Uppsala, Sweden)를 사용하여 각각 생산하였다. 방사화학적 수율은 기존에 reported method과 cartridge method으로 합성한 $[^{11}\text{C}]$ PIB를 analytical HPLC (Gilson Inc., WI, U.S.A.)을 사용하여 각각 측정하였으며, 잔류용매는 7820A GC System (CA, U.S.A.)을 이용하여 비교 분석하였다.

2. 카트리지 사전검사

여섯 개 (CM, HLB, Alumina, C18, tC18, tC18 environmental)의 카트리지를 각각 5 mL EtOH와 10 mL D.W.로 전처리 후에 질소가스로 충분히 purge하였다. 6-OH-BTA-0 (1 mg)을 cyclohexanone (1 mL)에 녹인 precursor mixture를 각각 0.1 mL씩 (0.1 mg in 100 μL of cyclohexanone) cartridge에 loading 하였다. 에탄올이 함유된 0.5 M 인산나트륨 완충액 (monosodium phosphate buffer, pH 5.1) 20 mL로 purification을 하였고, 최종 20 mL 분획 eluate를 받아서 analytical HPLC로 남아있는 전구체의 잔류량을 측정하였다(Fig. 5).

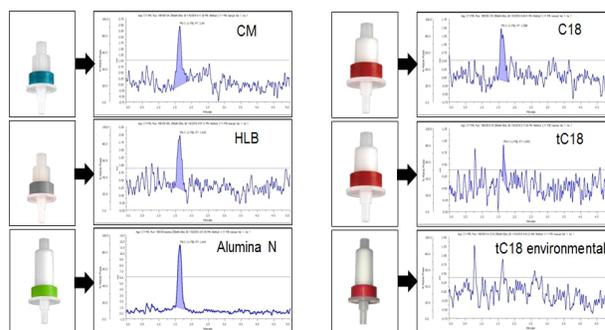


Fig. 5. Elution profile of candidates SPE cartridge with MSP buffer.

3. 정제완충액과 정제부피 최적화

카트리지 사전검사에서 가장 좋은 결과를 나타낸 C18, tC18, tC18 environmental cartridge로 정제 완충액과 용량 최적화를 진행하였다. C18 계열 (C18, tC18, tC18 environmental) cartridge에 에탄올이 포함된 인산나트륨 (monosodium

phosphate buffer) 완충액 농도를 변화시켜 가면서 최적의 완충액 농도를 찾고자 하였다. 인산나트륨 완충액 농도는 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM, 50 mM, 250 mM, 500 mM이며, 에탄올 함량은 20%와 30%로 하여 각각의 농도별로 용출액을 analytical HPLC로 분석하여 최적의 완충액 농도를 정하였다(Fig. 6, 6-1). 또한, 정제 부피를 최적화하기 위해서 용출액에 포함된 전구체 잔류량의 변화를 알아보기 위해 매 2 mL 분획마다 분석해서 전구체의 잔류량을 확인하였으며, 20 mL 분획에 전구체가 검출되지 않아서 최종 인산나트륨 완충액 부피를 20 mL로 정하였다(Fig. 7).

Buffer*		Analytical HPLC Residual Precursor Amount		
		C18	tC18	tC18 ent.
10 mM NaH ₂ PO ₄	In 20 % EtOH	X	X	X
20 mM NaH ₂ PO ₄		X	X	X
30 mM NaH ₂ PO ₄		X	X	X
40 mM NaH ₂ PO ₄		X	X	X
50 mM NaH ₂ PO ₄		Δ	Δ	Δ
10 mM NaH ₂ PO ₄	In 30 % EtOH	X	X	X
20 mM NaH ₂ PO ₄		X	X	X
30 mM NaH ₂ PO ₄		X	X	X
40 mM NaH ₂ PO ₄		X	X	X
50 mM NaH ₂ PO ₄		Δ	Δ	Δ

Fig. 6. Final eluate result analyzed by analytical HPLC.

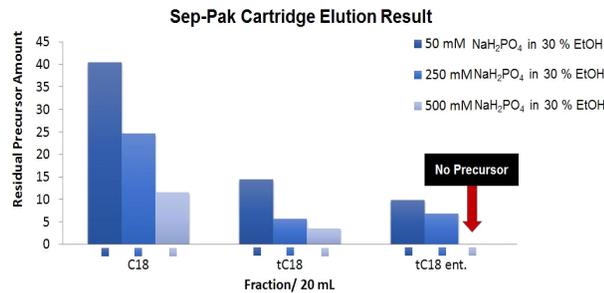


Fig. 6-1. Elution results of SPE C18 series cartridge with monosodium phosphate buffer.

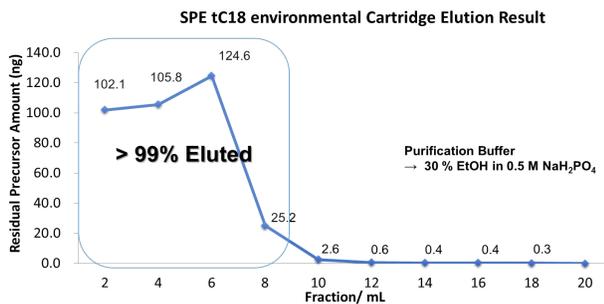


Fig. 7. Elution profile of 6-OH-BTA-0 mixture dissolved in 100 μ L of c-HXO with MSP buffer, pH 5.1.

4. Modification of GE Tracerlab FX C pro synthesis module

합성과정을 자동화하고 정제완충액에 의한 역류가능성을 방지하기 위하여 모듈을 modification하였다. V7 valve는 V8 valve와 위치를 바꾸어 연결하였으며, 정제 완충액이 들어있는 volumetric-flask와 V11 valve 사이에 위치시켰다. V5 vial에는 5 mL 용리액을, V6 vial에는 10 mL D.W.를 넣었다.

5. [¹¹C]PIB 합성

precursor 6-OH-BTA-0 (1 mg)를 c-HXO (100 μ L)를 녹인 mixture를 SPE Cartridge에 loading하였다. Cyclotron을 이용하여 ¹⁴N(p, α)¹¹C 핵반응을 통하여 [¹¹C]CO₂를 만든 후에 Tracerlab FXC pro 자동합성장치로 unloading를 하여 [¹¹C]MeI를 만들었다. Circulation이 끝난 [¹¹C]Methyl iodide는 210°C로 pre-heating되어 있는 AgOTf column을 통과하면서 [¹¹C]Methyl triflate로 전환되고 V7와 V11 valve를 지나서 카트리지로 들어가서 실온에서 3분 동안 methylation하였다. 불순물과 부산물을 제거하기 위하여 30% 에탄올이 포함된 0.5 M 인산나트륨 완충액 (monosodium phosphate buffer, pH 5.1) 20 mL과 10 mL D.W.로 세척하였다. 최종 product는 30% 에탄올이 포함된 0.5 M 인산나트륨 완충액(monosodium phosphate buffer, pH 5.1) 5 mL로 10 mL 생리식염수가 들어있는 포집 바이알로 용출하였으며, 0.22 μ V filter을 통과하여 최종 product vial로 포집 하였으며, 방사화학적 순도와 잔류 유기용매를 측정하기 위하여 analytical HPLC와 GC 장비를 사용하였다.

Results

서로 다른 충전물을 가진 6개의 카트리지를 이용하여 [¹¹C]PIB를 합성하였으나 소수성이 상대적으로 작은 CM, HLB, Alumina에서는 합성에 실패하였으며, C18과 tC18 Sep-Pak는 합성은 가능하였으나, 완충액으로 정제하는 과정에서 불순물을 완벽하게 제거하지 못하였다. C18 계열 중에서 소수성이 가장 높은 tC18 environmental cartridge만 유일하게 합성이 가능하였다. tC18 environmental cartridge로 합성한 [¹¹C]PIB의 방사화학적 순도는 $\geq 99\%$ 이었다. 방사화학적 순도(RCP, %)는 $\Delta / (\sum \Delta) \times 100(\%)$, Δ : area of [¹¹C]PIB peak, $\sum \Delta$: total peak area in analytical HPLC detected by sodium Iodide (NaI, TI) scintillation detector 공식

에 의하여 구하였다.

기존 방법인 HPLC 정제방법과 새로운 방법인 카트리지 정제방법을 비교하였다. 합성 시간에서는 기존 방법과 카트리지 방법이 각각 15 ~ 18min, 8 ~ 9 min이 소요되었으며, product activity는 각각 4.1±1.4 GBq (n=41), 3.8±0.9 GBq (n=3), 방사화학적 수율(based on HPLC analysis of the crude product)에서는 13.9±4.4% (n=41), 12.3±2.2% (n=3)로 별다른 차이가 없었다. 하지만 에탄올 함량과 비 방사능에 있어서는 큰 차이를 보였다(Fig. 8). 카트리지 방법으로 합성된 [¹¹C]PIB는 적은 용량을 필요로 하는 dynamic study에 적합할 뿐만 아니라, 최종 product에 적은 에탄올 함량(≤10%)으로 인하여 IV를 할 때 환자의 고통을 경감시켜주며, 높은 비 방사능으로 인해 좋은 영상 이미지를 얻을 수 있는 장점이 있으며, 잔류 용매 (c-HXO)도 HPLC 정제방법과 비교하여 큰 차이가 없다는 것을 확인하였다(Table 1).

Table 1. Summary of [¹¹C]PIB synthesis.

Purification Method* ¹	Synthesis Time (min, from methylation to purification)	c-HXO residue (ppm)	RCY(%) ^{*2}	RCP(%)
HPLC	15 ~ 18	53.0±71.1 (n=8)	13.9±4.4 (n=41)	≥ 99.0
Cartridge (tC18 ent.)	8 ~ 9	84.2±107.6 (n=3)	12.3±2.2 (n=3)	≥ 99.0

* 1 : 1 mg of 6-OH-BTA-O dissolved in 100 uL c-HXO

* 2 : Without decay correction (EOS)

Discussion

지금까지 알아본 바와 같이 HPLC대신에 카트리지를 사용하여 [¹¹C]PIB를 합성하여 보았다. 합성에 실패한 카트리는 CM, HLB, Alumina로 sorbent가 silica, styrene polymer, aluminum oxide로 silica가 기본베이스로 구성되어 있고, particle size는 각각 47 um, 54 um, 50 ~ 300 um의 크기로, trimethylsilyl group (TMS, -Si(CH₃)₃)와 같은 capping agent로 end-capping가 되어 있지 않아서 end-capping이 되어있는 충전물에 비해 상대적으로 소수성이 약하며, 탄소함량이 적거나 거의 없어서 (≤5.37% 이하) 정제 완충액으로 세척을 하는 과정에서 target compound와 불순물을 분리하기 어려웠다. 반면, C18 계열의 카트리는 (C18, tC18, tC18 environmental)는 충전물이 silica로 구성되어 있으며, trifunctional 결합과 TMS로 end-capping 되어 있어 이로 인해 소수성을 증가시켜

서 reaction mixture를 완충액으로 세척하였을 때 target compound가 용출되지 않고 충전물에 남아 있었던 것으로 생각된다. C18나 tC18 카트리지도 세척을 하는 동안 target compound가 세척되지 않고 카트리지에 남아 있었으나, 최종 eluent(30% EtOH in 0.5 M NaH₂PO₄) 5mL로 용출하여 analytical HPLC로 분석하여 본 결과 target compound 이외에 다른 불순물이 섞여 있었다. 반면에 tC18 environmental 카트리를 사용하여 합성한 최종 product에서는 [¹¹C]PIB peak 이외에 다른 불순물은 관찰되지 않았다(Fig. 9).

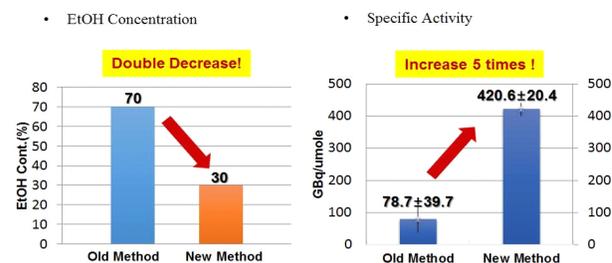


Fig. 8. Comparison diagram of HPLC method and SPE one in ethanol content and molar activity.

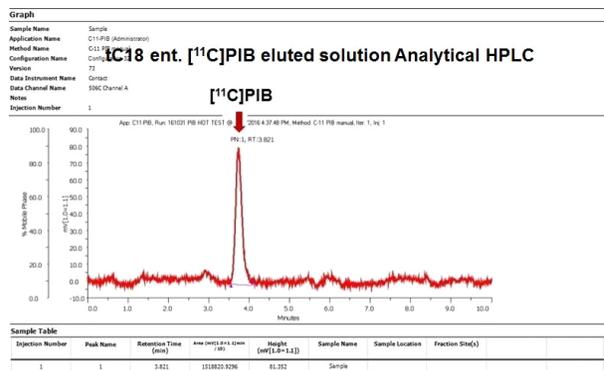


Fig. 9. Result of tC18 environmental cartridge elution.

이처럼 카트리지에 따라 결과가 차이가 나는 이유는 tC18 environmental의 particle size (46 um)가 C18 카트리지(79.6 um)에 비해 작고, 탄소함량에 있어서도 17.85 (%)로 C18 (12.08%)에 비해 많은 함량이 있어서 target compound를 잘 지지해주고 상대적으로 resolution도 우수하여 C18에 비해 좋은 결과를 보여주었다. 또한, tC18 environmental과 tC18의 particle size는 46 um로 동일하지만, tC18 environmental (900 mg)과 tC18 (400 mg)로 sorbent 양의 차이로 인해 resolution에 영향을 줘서 결과가 다르게 나온 것으로 생각된다.

완충액의 에탄올 농도를 20%로 이하로 만들어 용출하였을 때는 전구체가 카트리지에 많이 남아 있는 반면, 30%로

만든 다음 용출하였을 때는 카트리지에 남아있는 전구체의 양이 적고 대부분의 전구체가 용출되었다. 즉, 소수성이 증가해야만 전구체가 용출된다는 사실을 실험적으로 증명하였으며, 적절한 에탄올 농도와 적당한 완충액을 사용하면 precursor와 cartridge 안에 있는 sorbent사이의 affinity차이로 인하여 세척과정에서 불순물은 제거되고 순수한 최종 target compound만 추출하는 것이 가능할 것이다. 이러한 결과를 종합하여 보면 cartridge를 이용하여 reaction mixture를 정제했을 때, cartridge sorbent end-capping 및 trifunctional 결합 유무, 탄소함량, particle size, sorbent의 함량에 따라 target compound만 순수하게 분리할 수 있다는 것을 알게 되었다.

Conclusion

이번 실험에서는 기존에 보고된 방법이 아닌 새로운 방법, 즉 cartridge를 이용하여 methylation과 purification을 할 수 있는지 여부를 알아보고 그 가능성을 확인하였으며, cartridge method으로 합성된 [¹¹C]PIB는 HPLC purification method 방법에 비해 제조시간, 에탄올 함량 및 비방사능에 있어서 더 향상된 결과를 보여준다는 것을 확인하였다.

Summary

[¹¹C]PIB는 베타아밀로이드(Aβ plague)라는 변성 단백질에 결합하여 뇌의 기능과 기억력을 서서히 감퇴시키는 비가역적인 질환인 치매를 조기에 감별할 수 있는 대표적인 방사성의약품이다. 지금까지 많은 실험실에서 [¹¹C]PIB는 자동화합성장치에서 [¹¹C]methyl iodide나 [¹¹C]methyl triflate를 만든 다음 loop나 vial 방법을 사용하여 methylation을 한 다음 HPLC로 정제를 하는 것이다. 하지만 기존의 보고된 방법은 시간이 오래 걸리며, HPLC와 같은 복잡한 시스템을 필요로 하여 소규모 실험실에서 합성하기에 적합하지 않으며, 최종 product에서 에탄올 함량이 높다는 단점이 있었다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 카트리지만을 사용하여 카트리지에서 methylation과 purification을 동시에 실시함으로써 합성 시간을 단축하고, 비방사능이 높고, 낮은 에탄올 함량을 가진 [¹¹C]PIB를 합성 가능한지 확인하고자 하였다. 가장 널리 사용하는 카트리지가 6종(CM, HLB, Alumina, C18, tC18, tC18 environmental)을 선택하여 screening test를 실시하였다. 6-OH-BTA-0 1 mg을 c-HXO에 녹인 다음 6개의 카트리지에 loading를 한 다음 0.5 M MSP(pH 5.1) 20 mL로 정제를 한 다음 최종 fraction을 받아서 analytical HPLC로 전구체 잔류량

을 측정된 결과 hydrophobicity가 낮은 계열(CM, HLB, Alumina)의 카트리지에서는 완충액으로 정제를 하였을 때 잔류전구체의 양이 많았으나, 탄소함량이 많은 계열의 카트리지(C18, tC18, tC18 environmental)에서는 잔류전구체의 양이 CM, HLB, Alumina 카트리지에 비하여 상대적으로 적었다. 완충액의 정제 농도와 부피를 최적화 하기 위하여 screening test에서 가장 좋은 결과를 나타낸 C18 series cartridge를 가지고 추가 실험을 진행하였다. 인산완충액 농도를 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM, 50 mM, 250 mM, 500 mM로 변화시켰으며, 에탄올 함량은 20%와 30%로 하여 용출액을 분석하여서, [¹¹C]PIB를 카트리지로 합성하기 위한 최적의 조합은 tC18 environmental cartridge와 0.5 M MSP 20 mL인 것을 알 수 있었다. 기존에 보고된 방법과 cartridge를 비교한 결과, 합성시간에서는 각각 15 ~ 18min, 8 ~ 9 min이 소요되었으며, product activity는 각각 4.1±1.4 GBq (n=41), 3.8±0.9 GBq (n=3), 방사화학적 수율(based on HPLC analysis of the crude product)에서는 13.9±4.4% (n=41), 12.3±2.2% (n=3)로 별다른 차이가 없었으며, 비방사능에 있어서는 HPLC purification method가 78.7±39.7 GBq/μmol (n=41), cartridge method가 420.6±20.4 GBq/μmol (n=3)로 카트리지 방법이 기존 방법보다 더 좋은 결과를 나타내었다. 또한, 잔류 용매(c-HXO)도 vial or loop method와 별다른 차이가 없었으며, 에탄올 함량에 있어서는 70%(기존 방법)에서 30%(카트리지 방법)로 두 배 이상 함량이 적다는 사실을 알 수 있었다. 지금까지 알아본바와 같이 cartridge method는 reported method(HPLC purification)에 비하여 더 향상된 결과를 보여준다는 사실을 확인하였다.

REFERENCES

1. Murphy MP, LeVine H, 3rd. Alzheimer's disease and the amyloid-beta peptide. *J Alzheimers Dis.* 2010;19(1):311-23.
2. Mosconi L, Brys M, Glodzik-Sobanska L, De Santi S, Rusinek H, de Leon MJ. Early detection of Alzheimer's disease using neuroimaging. *Exp Gerontol.* 2007;42(1-2): 129-38.
3. Okamura N, Harada R, Furukawa K, Furumoto S, Tago T, Yanai K, et al. Advances in the development of tau PET radiotracers and their clinical applications. *Ageing Res Rev.* 2016;30:107-13.
4. Cohen AD, Klunk WE. Early detection of Alzheimer's

- disease using PiB and FDG PET. *Neurobiol Dis.* 2014;72 Pt A:117-22.
5. Vandenberghe R, Van Laere K, Ivanoiu A, Salmon E, Bastin C, Triau E, et al. 18F-flutemetamol amyloid imaging in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: *a phase 2 trial.* *Ann Neurol.* 2010;68(3):319-29.
6. Jureus A, Swahn BM, Sandell J, Jeppsson F, Johnson AE, Johnstrom P, et al. Characterization of AZD4694, a novel fluorinated Abeta plaque neuroimaging PET radioligand. *J Neurochem.* 2010;114(3):784-94.
7. Wolk DA, Zhang Z, Boudhar S, Clark CM, Pontecorvo MJ, Arnold SE. Amyloid imaging in Alzheimer's disease: comparison of florbetapir and Pittsburgh compound-B positron emission tomography. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012;83(9):923-6.
8. Barthel H, Sabri O. Florbetaben to trace amyloid-beta in the Alzheimer brain by means of PET. *J Alzheimers Dis.* 2011;26 Suppl 3:117-21.